

LA VIOLETTE CONNAÎT
UN RENOUVEAU
GRÂCE À L'IMAGERIE
MOLÉCULAIRE. ICI, LA
VIOLETTE DE TOULOUSE
RECONNAISSABLE PAR SES
FLEURS DOUBLES
© A. NAVARRE (ENSFA)

L'IMAGERIE MOLÉCULAIRE AU CŒUR DES VIOLETTES DE TOULOUSE

Par Marie-Thérèse Esquerré-Tugayé, Cécile Pouzet et Alain Jauneau

Fleur du renouveau, la violette n'a cessé d'être intimement liée à la ville de Toulouse depuis le XIV^e siècle. Son histoire le prouve. De la parfumerie à la confiserie, son image est largement exploitée. Aujourd'hui, l'imagerie moléculaire participe à sa connaissance et à sa valorisation.

L'histoire nous apprend que la ville de Toulouse adopte la fleur de violette comme emblème dès le XIV^e siècle. En réaction aux conditions de reddition des provinces du sud lors de la croisade des Albigeois (XIII^e siècle), un consistoire « *du gay sabor* » porté par plusieurs poètes soucieux de rétablir un certain lyrisme, fonde en 1323, à Toulouse, « *l'Academia dels Jocs Florals* », l'actuelle Académie des

Jeux Floraux. Lors de concours littéraires en langue d'oc, elle récompensait un troubadour d'une fleur de violette dorée à l'or fin. Ainsi apparaît pour la première fois une violette dans l'histoire de Toulouse. Il s'agit, alors, de la violette odorante, *Viola odorata*, violette commune des talus et jardins ombragés, dont la floraison arbore dès le printemps (mars) des fleurs munies de cinq pétales de couleur violette. C'est à partir du XIX^e siècle qu'une autre violette fait son apparition en France et particulièrement à Toulouse, provenant vraisemblablement de régions d'Italie (Parme, Naples). D'où le nom longtemps utilisé de « Violette Parme de Toulouse » et aussi « *Viola Tolosana* » dont l'identité botanique et la position taxonomique ont ensuite été révélées.

— UN PARFUM TRÈS PRISÉ —

La violette est une plante bisannuelle au feuillage abondant qui fleurit essentiellement au début du printemps et qui se distingue, des quelque 500 à 600 espèces du genre *Viola*, par ses fleurs doubles de 20 à 40 pétales (cf. la photo en début d'article). Ses fleurs étant stériles en raison de la différenciation des étamines en pétales (Morard *et al.* 2000), elle se propage par voie végétative grâce à ses stolons. L'utilisation des techniques de phylogénie moléculaire montre qu'il s'agit de *Viola alba* subsp. *dehnhardtii* (Malécot *et al.* 2007). C'est l'actuelle violette de Toulouse dont les fleurs de couleur parme exhalent un parfum très prisé des fleuristes, confiseurs et parfumeurs. Conjointement à *Viola odorata*, elle accompagne l'histoire de la « ville rose ».

— BIOCHIMIE ET IMAGERIE MOLÉCULAIRE —

Comme d'autres violettes, la violette de Toulouse renferme des composés d'intérêt pour des applications médicales et cosmétiques. Les polyphénols, connus pour leur activité antioxydante, et les mucilages pour leur propriété hydratante, en font partie. La grande famille des polyphénols comprend des molécules simples (acides phénoliques) ou plus complexes (flavonoïdes, anthocyanes...) solubles dans des solvants organiques, ainsi que les grands polymères (lignine) insolubles dans ces conditions

Les mucilages sont des polymères de sucres solubles en milieu aqueux. La solubilité différentielle des composés phénoliques et des mucilages permet de les extraire séparément à partir du matériel végétal et de les quantifier par des méthodes de dosage appropriées. Parallèlement, l'aptitude des polyphénols à fluorescer spécifiquement selon

leur nature, quand on les excite par la lumière ultraviolette, permet de les visualiser directement sur tissu vivant (Talamond *et al.* 2015) et d'enregistrer les spectres correspondants : fluorescence bleue des acides phénoliques, bleu vert des flavonoïdes, début du rouge des anthocyanes, rouge des chlorophylles.

— UN PROFIL TYPIQUE DE CHAQUE ORGANE —

Ainsi il est possible par une double approche conjuguant biochimie et imagerie de doser et de localiser les composés phénoliques et les mucilages. L'imagerie moléculaire combine les données fournies par ces deux approches sur les organes aériens et souterrains de la violette.

Figure 1 (A,B)

L'observation en lumière normale (A) d'une coupe transversale d'un pétale de fleur montre que les pigments responsables de la couleur violette sont confinés dans l'épiderme supérieur et inférieur. La fluorescence rouge sous lumière UV, est typique des anthocyanes (B). Parallèlement, l'analyse biochimique révèle que l'extrait de pétales renferme des mucilages (3,4 mg/g de Matière Fraîche MF), qu'il est riche en flavonoïdes et phénols (1,6 et 1,9 mg/g MF), et que son spectre de fluorescence (Figure 2) est en parfaite adéquation avec les images observées (deux pics à 450-520 nm et 680 nm).

Il ressort de ces études, un profil typique de chaque organe : richesse de la fleur en phénols libres et anthocyanes cohérente avec leur rôle de protection de cet organe éphémère contre les rayonnements, au contraire des racines et pour une moindre mesure des feuilles où la richesse en mucilages prédomine, rempart vraisemblable contre la dessiccation de ces organes permanents.

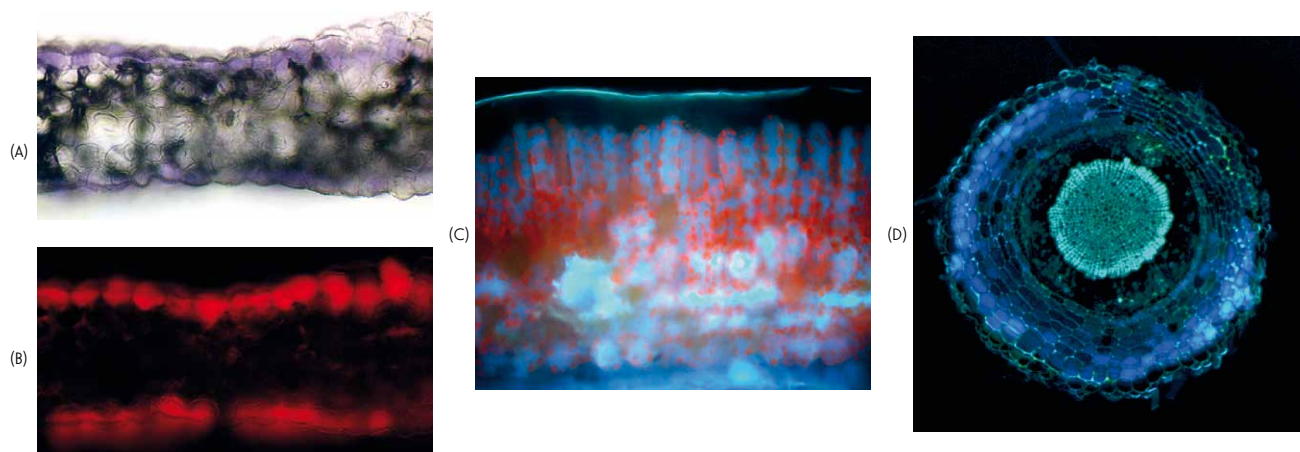


FIGURE 1 – OBSERVATION DE COUPES TRANSVERSALES : FLEUR-PÉTALE EN LUMIÈRE NORMALE (A) ET EN MICROSCOPIE DE FLUORESCENCE (B) ; LIMBE FOLIAIRE (C) ET RACINE (D) EN MICROSCOPIE DE FLUORESCENCE.

Figure 1 (C)

L'examen d'une coupe transversale de feuille montre que la fluorescence est absente de l'épiderme supérieur, mais typique de la présence de chlorophylle (rouge) et de composés phénoliques (bleu) dans les parenchymes foliaires. L'extrait de feuille (limbe et pétiole) débarrassé de chlorophylle, ainsi que l'enregistrement de son spectre de fluorescence confirment la présence de phénols et de flavonoïdes (0,3 et 1,2 mg/g MF) qui fluorescent (Figure 2) aux longueurs d'onde attendues (450 à 520 nm et 680 nm). Par rapport aux fleurs, on note l'abondance de mucilages (13,5 mg/g MF).

Figure 1 (D)

Par comparaison, seule une fluorescence bleue apparaît dans une coupe transversale de racine. Outre la présence de lignine dans les vaisseaux du cylindre central, elle est particulièrement associée au parenchyme cortical. L'analyse de l'extrait révèle la présence de phénols libres (0,2 mg/g MF), confirmée par le spectre de fluorescence (Figure 2), et la très grande richesse en mucilages (15 mg/g MF). L'absence de flavonoïdes rend compte de la nécessité de lumière pour leur biosynthèse.

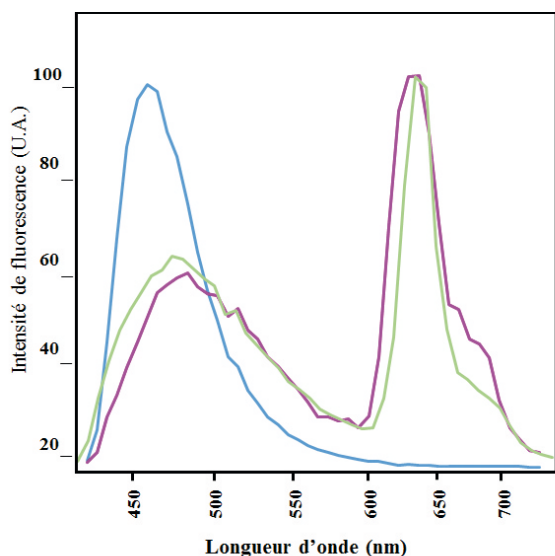


FIGURE 2 - SPECTRES D'ÉMISSION D'EXTRAIT DE PÉTALES (EN VIOLET), DE FEUILLES (EN VERT) ET DE RACINES (EN BLEU)

— RENOUVEAU DE SA CONNAISSANCE —

Les poètes l'ont célébrée, Armand Millet membre de la SNHF depuis 1874 l'a décrite, Elizabeth II toute de violet vêtue l'a respirée à Toulouse, Claude Nougaro l'a chantée, et la place du Capitole fête ses fragrances tous les ans à l'orée du printemps. À ces traditions, liant la culture à la carte postale, vient maintenant s'ajouter le renouveau de sa connaissance dont l'imagerie moléculaire est l'un des aspects. En dévoilant l'empreinte chimique des différents organes, elle permet d'apprécier rapidement l'effet de différents facteurs liés à la culture de la plante sur la teneur en substances potentiellement intéressantes, et de concevoir le type d'extraction souhaité pour les valorisations recherchées. ■

Remerciements au Groupe Berdoues-Parfums et Cosmétiques et au Conseil Régional Occitanie (Midi-Pyrénées) pour leur soutien, ainsi qu'aux Serres municipales de la ville de Toulouse pour la culture des violettes fournies pour cette étude.

À lire...

- Malécot V. et al., 2007. Am. J. Bot., 94, 29-41.
- Millet A., 1898. Les Violettes : leurs origines, leurs cultures. Doin ed. Paris, 161 p.
- Morard Ph. et al., 2000. Bull. Soc. Hist. Nat., Toulouse, 136, 73-83.
- Talamond P. et al 2015. Molécules, 20, 5024-5037.

PIERRE BARANDOU, PRODUCTEUR DE VIOLETTES, TÉMOIGNE



UNE DES VIOLETTES CULTIVÉES PAR PIERRE BARANDOU : 'MRS. PINEHURST'

« Tombé amoureux des violettes en apprenant que mon arrière-grand-mère, bouquetière à Agen, proposait des Parme de Toulouse, j'ai voulu tout savoir de leur histoire et ai participé dans les sociétés qui s'étaient formées pour ranimer cette fleur emblème de Toulouse. Les premiers plants trouvés étaient lamentables. J'ai fouillé toutes les bibliothèques de la ville, puis les facultés de médecine, les bibliothèques françaises, de langues allemande, anglaise et italienne. Peu à peu, soutenue par la Région Midi-Pyrénées, la Haute-Garonne et Toulouse, la Violette in vitro annonça le renouveau de la fleur pluriséculaire de la Ville. J'ai suivi les travaux horticoles techniques et les fréquentes réunions de toutes les parties intéressées par les fleurs, les feuilles et les racines pour les horticulteurs, les fleuristes, les industriels, les parfumeurs, les liquoristes, les restaurateurs et la pharmacopée...

Les rosettes, les meilleures

J'ai vendu des boutures et travaillé les violettes en pot. J'avais une centaine de pieds mères issus de vitro-plants sur lesquels je prélevais des boutures juvéniles au sommet des stolons. Les meilleures étaient les rosettes. J'utilisais des pots de 10 à 13 cm et je plantais des boutures seules ou en petits bouquets de 5 à la base retaillée, dans le même trou en prenant soin de bien les border dans le terreau, car tout talon qui ne touche pas le sol a peu de chance de s'enraciner.

J'ai lancé une série de 5 000 pots plastiques de 10 cm pendant cinq ans. Pour éviter les stolons, corvée

longue et inintéressante, j'avais choisi août, car ils se raréfient en jours décroissants. La chaleur, par contre, était accablante.

Maîtrise technique

Je m'occupais seul du début de la culture. Le terreau était humide à la plantation et les pots disposés à touche-touche sur une tablette de serre Richel à toit plastique double paroi bien aérée. La tablette était protégée par un petit tunnel recouvert d'une toile noire pour limiter la luminosité. La semaine 1, les pots étaient recouverts directement d'une toile P17, soulevée quelques minutes de bonne heure et reposée sur les boutures. La semaine 2, les boutures étaient découvertes petit à petit pour les endurcir. On humidifiait l'air sous les tablettes lors des fortes chaleurs et la semaine 3, si les boutures étaient bien, le P17 était supprimé. Le nettoyage était régulier pour éviter le botrytis et les boutures déplacées étaient rebornées. L'arrosage était vérifié tous les jours.

Réservée pour la Saint Valentin

Après l'enracinement, les pots étaient écartés, arrosés et soignés dans un tunnel isolé et à peine chauffé, le toit peu ouvert la nuit pour maintenir si possible une température nocturne inférieure à + 10 °C pour une bonne floraison (chasmogame).

La solution nutritive Coïc-Lesaint avait été calculée pour toutes nos cultures par M. Y. Coïc, Directeur à l'I.N.R.A. de Saint-Cyr, lors d'un stage effectué chez Mme Monique Lemattre pour le Xanthomonas du Pélargonium.

Cette série était réservée en grande partie pour la Saint Valentin à Paris. La floraison était parfois un peu juste, de 4 à 7 fleurs par pot, mais le nombre de boutures aurait pu être augmenté.

Nous cultivions plusieurs variétés de violettes anciennes et modernes, odorantes dont la 'Reine Charlotte' ou 'Königin Charlotte' (1899 All.), des américaines et des asiatiques. »

—

Pierre Barandou